CE

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human CD15
Clon Carb-3
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS062

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

Se prevé el uso de FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD15, Clon Carb-3, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. Este anticuerpo es útil para identificar granulocitos maduros, células de Hodgkin mononucleares y células de Reed-Sternberg en el linfoma de Hodgkin (1). La interpretación clínica de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un patólogo calificado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Sinónimos del antígeno

Antígeno Lewis X (Le^x) (2,3), 3-fucosil-N-acetil-lactosamina [3-FL] (4), hapteno X (3,5), antígeno embriónico específico a la etapa-1 [SSEA-1] (2,3), lacto-N-fucopentaosa III [LNFP III] (3).

Resumen y explicación

CD15 se expresa en las células de Reed-Sternberg de la enfermedad de Hodgkin y en otros tipos diversos de células, como las mieloides y las epiteliales (3–6). Los anticuerpos contra la CD15 reconocen una secuencia pentasacárida presente en la lacto-N-fucopentaosa III ceramida (también denominada hapteno X de Le^x), que se encuentra en los glucolípidos y glucoproteínas superiores (2,5).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: 1) Principio del procedimiento, 2) Material necesario pero no suministrado, 3) Almacenamiento, 4) Preparación de la muestra, 5) Procedimiento de tinción, 6) Control de calidad, 7) Solución de problemas, 8) Interpretación de la tinción y 9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

El anticuerpo monoclonal de ratón listo para usar se suministra en forma líquida en una solución tampón que contiene proteína estabilizante y 0,015 de mol/L NaN_3.

Clon: Carb-3. Isotipo: IgM, kappa.

Inmunógeno

Fragmento oligopeptídico hapteno X aislado por afinidad procedente de células leucémicas mielomonocíticas.

Especificidad

En transferencias de Western de lisados de células HL60, el anticuerpo marca una banda principal de ~220 kDa correspondiente al peso molecular esperado de CD15 (7).

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida de sodio (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución que no se utilice deberá desecharse de acuerdo con las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 °C. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario deberá comprobar dichas condiciones. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán analizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no puede ser explicada por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche un problema con el anticuerpo, comuníquese con la asistencia técnica de Dako.

Preparación de las muestras, incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo se puede utilizar para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER). Se consiguen resultados óptimos al tratar los tejidos previamente con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x) (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010/K8014).

Cortes desparafinados: Se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link.

Siga el procedimiento de tratamiento previo indicado en el prospecto para EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010/K8014). Se deben aplicar los siguientes parámetros para PT Link: temperatura de precalentamiento: 65 °C; temperatura y tiempo de recuperación del epítopo: 97 °C durante 20 (±1) minutos; enfriar a 65 °C. Enjuagar los cortes con EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x) (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010) diluido a temperatura ambiente.

Cortes incluidos en parafina: Como método alternativo de preparación de una muestra, tanto el desparafinado como la recuperación del epítopo se pueden realizar en el PT Link con un procedimiento modificado. Ver instrucciones en la Guía del usuario de PT Link. Después de finalizado el procedimiento de tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de Dako Silanized Slides (nº de catálogo S3003).

Procedimiento de tinción, incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus usando los siguientes protocolos.

Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de aplicación 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de aplicación 300 µL).

Autoprogram (sin contratinción): CD15 o Autoprogram (con contratinción): CD15H.

El paso Auxiliar debe configurarse como “tampón de enjuague” en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. En el caso de sesiones de tinción con >10 portaobjetos, el paso Auxiliar debe configurarse como “ninguno”. De esta manera se aseguran tiempos de lavado semejantes.

Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspondiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en el instrumento Dako Autostainer utilizado, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que los resultados del protocolo ajustado sigan siendo válidos confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en "Características de resultados".

Se recomienda la contratinción en hematoxilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El tejido de control positivo debe incluir neutrófilos, eosinófilos y macrófagos centrales germinales, y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para este tejido en “Características de resultados” en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS750).

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular es citoplasmático y/o membranoso (1,5).

Características de resultados

Tejidos normales:

Tipo de tejido (nº analizado)	Elementos tisulares con tinción positiva
Suprarrenal (3)	3/3 células endocrinas de la corteza suprarrenal (100%), citoplasmático
Médula ósea (3)	2/3 mielocitos (100%), citoplasmático 1/3 todas las células (100%), citoplasmático
Mama (2)	2/2 epitelio ductal (25–100%), citoplasmático
Encéfalo, cerebelo (3)	3/3 materia blanca, materia gris (100%), difuso
Encéfalo/cerebro (3)	3/3 materia blanca, materia gris (100%), difuso
Cuello uterino (2)	0/2
Colon (2)	1/2 epitelio glandular mucoso (50%), punteado, apical, citoplasmático 1/2 epitelio mucoso (20%), apical citoplasmático
Esófago (2)	2/2 epitelio escamoso no basal (100%), citoplasmático
Corazón (3)	0/3
Riñón (3)	3/3 epitelio tubular cortical (100%), citoplasmático 2/3 endotelio cortical y medular (100%), citoplasmático
Hígado (3)	1/3 endotelio sinusoidal (40%), citoplasmático

Pulmón (3)	0/3
Células mesoteliales (3)	2/3 células mesoteliales (100%), citoplasmático
Nervio (3)	0/3
Ovario (3)	0/3
Páncreas (3)	2/3 células acinares (25–50%), citoplasmático
Paratiroides (3)	0/3
Hipófisis (3)	3/3 células endocrinas de la adenohipófisis (75–100%), citoplasmático 2/3 neurófilos de la neurohipófisis (75–100%), difuso
Próstata (2)	1/2 epitelio glandular (50%), citoplasmático
Glándula salival (3)	1/3 epitelio ductal (100%), apical citoplasmático 1/3 epitelio glandular (20%), citoplasmático
Músculo esquelético (3)	0/3
Piel (3)	0/3
Intestino delgado (3)	1/3 epitelio mucoso (20%), apical citoplasmático
Bazo (3)	3/3 células mieloides (100%), citoplasmático
Estómago (3)	3/3 mucosa gástrica (100%), citoplasmático
Testículos (3)	0/3
Timo (3)	2/3 corpúsculos de Hassall (100%), no celular
Tiroides (2)	0/2
Amígdala (3)	2/3 epitelio escamoso superior (50–100%), citoplasmático
Útero (2)	2/2 epitelio glandular (15–75%), citoplasmático

Tejidos anormales:

En una revisión de Arber y col. se ha documentado que los anticuerpos contra la CD15 muestran una tinción positiva en el 87% de los casos de enfermedad de Hodgkin de los tipos esclerosante nodular, de celularidad mixta y con pérdida linfocitaria; mientras que la variante con predominancia de linfocitos presenta una menor tasa de positividad (37%). Entre los linfomas no Hodgkin, el 13% expresan la CD15, incluido un 4,1% de los tipos de células B, 21% de los tipos de células T, y un 17% de los tipos de células nulas. Asimismo, se ha observado expresión de CD15 en casos de leucemia mieloide aguda (65%) y de leucemia mielógena crónica (96% de fase crónica y 54% fase blástica). Se ha documentado un nivel de expresión de CD15 relativamente bajo asociado con la leucemia linfoblástica aguda (5,7% en total), con positividad en el 7,7% de los tipos de células B comunes o precursoras, 0% de los tipos de células B, 7,7% de los tipos de células T y 17,3% de los tipos de células nulas. De igual forma, se ha observado que los carcinomas derivados de diversos órganos son positivos para la CD15 (56%), incluidos adenocarcinomas, carcinomas de células escamosas y carcinomas no diferenciados de células pequeñas y grandes (5).

Referencias bibliográficas

1. Pileri SA, Ascani S, Leoncini L, Sabattini E, Zinzani PL, Piccaluga PP, Pileri A, Jr., Giunti M, Falini B, Bolis GB, Stein H: Hodgkin's lymphoma: the pathologist's viewpoint, J Clin Pathol 2002, 55:162–176.
2. Ball ED. CD15 cluster workshop report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, Ritz J, Shaw S, Silverstein R, Springer T, Tedder TF, Todd RF (eds). Leucocyte Typing V. White cell differentiation antigens. Oxford: Oxford Univ Press 1993;1:790–805.
3. Kannagi R. CD15 Workshop Panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEGK, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, Moretta L, Okumura K, Shaw S, Springer TA, Sugamura K, Zola H (eds). Leucocyte Typing VI. White Cell Differentiation Antigens. Garland Publishing Inc. New York, 1998;348–51.
4. Gocht A, Struckhoff G, Löhler J. Invited review. CD15-containing glycoconjugates in the central nervous system. Histol Histopathol 1996;11:1007–28.
5. Arber DA, Weiss LM. CD15: a review. Applied Immunohistochem 1993;1(1):17–30.
6. Kornstein MJ, Bonner H, Gee B, Cohen R, Brooks JJ. Leu M1 and S100 in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphomas. AJCP 1986;85(4):433–7.
7. Unpublished (Dako).

REF Número de catálogo	Limite de temperatura	IVD Producto sanitario para diagnóstico in vitro	
Fabricante	LOT Código de lote	Σ Contenido suficiente para <n> ensayos	
Fecha de caducidad	Consulte las instrucciones de uso	EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea	

Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

EC REP
Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

PT0020/ Rev C

Edición 09/07